文章编号:1673-2383(2009)02-0055-04

CO_2 检测法监测小麦储藏微生物活动的研究

梁　微，蔡静平，高　翔

(河南工业大学 生物工程学院,河南 郑州 450052)

摘要：研究了不同水分含量小麦在模拟储藏条件下 CO_2 含量变化,及其与霉菌数量、微生物活性值之间的关系.结果表明,安全水分小麦常规储藏期间微生物数量和 CO_2 检测值均没有明显升高;14% 水分的小麦储藏 10 d 后二氧化碳浓度升高达到 0.244%,由于二氧化碳浓度检测分辨率高(0.001%),因此,可比带菌量检测能更早、更精确地反映储粮的微生物危害情况,这一特点与微生物活性值检测方法相近.进一步分析结果表明,几种检测方法数据有正相关性,当储藏的小麦水分超出安全水分时,14% 水分小麦 60 d 储藏二氧化碳浓度检测值与带菌量检测值的相关系数为 0.95,与微生物活性值检测值的相关系数为 0.99;16% 水分小麦的检测数据相关性与 14% 水分小麦相似,分别为 0.90 和 0.99.

关键词:CO_2 检测;微生物活动;粮食储藏

中图分类号:TS 210　　　**文献标识码**:B

微生物是影响粮食安全储藏的主要因子之一,微生物在粮食中的生长、代谢将危害粮食的品质,甚至在粮食中产生真菌毒素.因此,对于储粮微生物的防控关键在于早期发现、及时处理[1-3].国内粮库目前主要采用电子测温的方法了解微生物在储粮中的活动,由于粮温变化的滞后性,通常只能在粮食受损后才能发现其变化."十五"期间研发的微生物活性值检测新技术虽然可以灵敏地监测储粮中微生物的活动,但该方法的检测首先需要进仓采集粮食样品,这对于熏蒸粮仓或粮面覆盖的粮仓有很多不便;而且,如果进仓大规模取样,工作量相对较大,尤其对深层粮仓,需要耗费更多的人力和物力.

由于微生物在粮仓中进行生长、代谢活动必然释放二氧化碳气体,而常规储藏的粮食呼吸产生二氧化碳的基数较低[4],因此,借助二氧化碳传感器监测储粮中微生物的活动是一种可以实现在粮仓外部在线检测的有效方法.在粮仓储粮微生物活动的在线检测方面国内外尚未见有系统的研究.本试验主要通过对小麦加湿获得不同水分含量的样品,在实验室进行常规模拟储藏,研究储藏期间 CO_2 含量变化与微生物活动间的关系,为监测粮食微生物活动提供新的实验依据.

1　材料与方法

1.1　试验材料

1.1.1　粮食样品

郑州市本地产小麦.

1.1.2　分离所用培养基

改良察氏培养基.

1.1.3　微生物活性检测仪

由四川晟荣科技有限公司与河南工业大学联合研制.

1.1.4　气体检测仪

由传感器和显示部件组装而成,深圳逸云天电子有限公司生产.

1.2　试验方法

1.2.1　粮食加湿方法

将干燥粮食置于相对无菌的环境中,用气压喷雾器对粮食喷洒无菌水,调节至一定的含水量,混合均匀后用保鲜膜密封.测定粮食水分直至稳定不变.

1.2.2　粮食模拟储藏方法

将粮食装入密闭容器中,置于恒温箱中恒温储藏.

收稿日期:2009-01-09

基金项目:"十一五"国家科技支撑计划(2006BAK02A25)子课题资助项目

作者简介:梁微(1984-),女,江西东乡人,硕士研究生,研究方向为农产品加工及储藏.

1.2.3 平板菌落计数法

采用 GB 4789115 测定方法.

1.2.4 微生物检测仪检测法

将一定量的粮食用无菌水振荡洗涤制成菌悬液,置于检测容器中检测,维持 30 ℃恒温 15 min,然后直接在显示屏中读出微生物活性值.

1.2.5 CO_2 检测法

在储藏小麦的密闭容器封口部位设置两根导气管及阀门,导气管一端埋入小麦中,检测时将导气管另一端分别与检测仪器进、出气口相连接,打开阀门,用微型气泵将气体抽出从进气口进入检测部位并由出气口排回密闭容器内,稳定 2 min 后直接在显示屏中读出 CO_2 含量值.

1.2.6 相关系数的计算

$$\rho_{x,y}=\frac{Cov(X,Y)}{\sigma_x\cdot\sigma_y}$$

2 结果与讨论

2.1 小麦常规储藏期间 CO_2 气体含量的变化

安全水分小麦在常规储藏期间霉菌等微生物通常不能生长繁殖,但是处于休眠状态的小麦、微生物等生物类群均维持一定量的呼吸代谢.将品质正常的小麦用气密容器储藏,结果表明(表 1),在 60 d 的试验期间,小麦中的霉菌总数基本没有变化,可以反映微生物代谢活动状况的微生物活性检测值变化也不明显[1],但 CO_2 含量呈现缓慢增加的现象,这应该属于储藏容器中所有生物量代谢呼吸累积的总和.如果从 CO_2 含量增加值来看,在小麦安全储藏期间的增速是非常缓慢的,60 d 内 CO_2 含量仅增加了 0.267%.考虑到常规小麦储藏不可能维持完全气密的环境,缓慢的二氧化碳增量值可能远远小于与外界的气体交换量.进一步的试验也表明,小麦在一般气密条件的常规储藏下,二氧化碳检测值没有出现明显增高的现象.

表 1 小麦储藏期间气体与微生物活动变化(温度 30 ℃, 水分 11.5%)

储藏时间/d	0	10	20	30	40	50	60
CO_2 含量/%	0.065	0.079	0.155	0.204	0.256	0.296	0.332
霉菌总数/(10^3cfu · g^{-1})	2.1	2.7	3.2	2.6	2.3	2.5	2.8
微生物活性/u	34	35	41	39	36	38	37

2.2 高水分小麦储藏期间 CO_2 气体与霉菌数量的变化

粮食水分增高,霉菌等微生物的生长活动增强,呼吸代谢旺盛.将高水分小麦进行储藏试验,在整个储藏期内,CO_2 含量与霉菌总数均呈现出增加的趋势,60 d 内 CO_2 含量增加了 24.1 倍(图 1).在小麦储藏的初期,微生物刚开始生长代谢,其带菌量的增加比较平缓;储藏 10 d 后带菌量才有明显增加,升高了一个数量级(10 倍),25 d 内带菌量仍维持在升高一个数量级的范围;但储藏在密封容器中的实验小麦呼吸作用随着微生物活动而增强,传感器能精确检测到 CO_2 含量的升高,10 d 后二氧化碳浓度即明显升高了 0.244%,储藏 25 d 时容器中二氧化碳浓度升高了 13.5 倍.由于平板菌落计数检测的误差范围较大,同一样品的检测值可能在同一个数量级范围内变动,而二氧化碳浓度检测的灵敏度较高,检测分辨率为 0.001%,因此,检测 CO_2 浓度变化比菌落计数法能更早、更精确地反映储粮的微生物危害情况.

从图 1 中 CO_2 含量的变化可以看出,在储藏的第 15 天到第 35 天的 20 d 内 CO_2 含量升高幅度最大,达到 1.08%,占 60 d 储存期 CO_2 增加量的 57%;在 35 d 后,CO_2 含量的增幅显著减少,这是由于密闭容器内氧气不断被消耗,CO_2 含量不断增加,对容器内所有的生物呼吸均产生抑制作用所致.因此,利用二氧化碳含量变化监测粮堆储藏安全性在微生物活动的初期更为敏感,这一特性与储粮安全监测的要求是一致的.

储藏小麦的水分提高到 16% 时,储藏环境中二氧化碳含量增加的速度更快(图 2),储藏 3 d 的二氧化碳浓度已经达到 1.7%,而此时小麦的

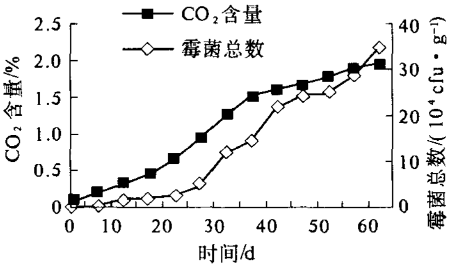

图 1 CO_2 含量与霉菌数量的变化(温度 30 ℃,水分 14.0%)

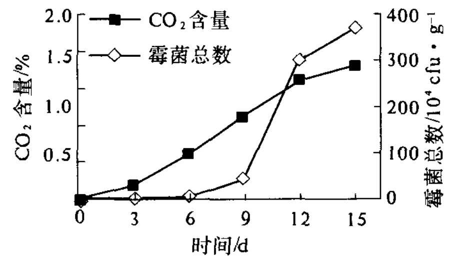

图 2 CO_2 含量与霉菌数量的变化(温度 30 ℃,水分 16.0%)

带菌量几乎没有发生变化，说明利用二氧化碳浓度变化监测不良环境下储藏小麦的微生物危害具有更高灵敏度.

2.3　高水分小麦储藏期间 CO_2 浓度与微生物活性的变化

微生物活性值检测是"十五"期间最新研发的一种监测储粮中微生物活动的方法. 该方法的基本原理是以微生物酶活性的变化为依据，当微生物进行生长和代谢时，其酶活性值将随着增大，因而微生物活性值的变化与储粮的品质变化等微生物危害具有良好的相关性. 对 14% 水分小麦进行 60 d 的储藏表明(图 3)，微生物活性检测法与 CO_2 传感器检测技术检测结果均表现出很高的敏感性，在储藏的前 10 d、20 d 和 30 d 中二氧化碳检测值的增加量分别为 3.7 倍、9.2 倍和 18.5 倍，微生物活性值检测值的增加量分别为 0.5 倍、1.8 倍和 6.2 倍. 因此，这些方法均可有效监测储储藏小麦中微生物的危害性活动.

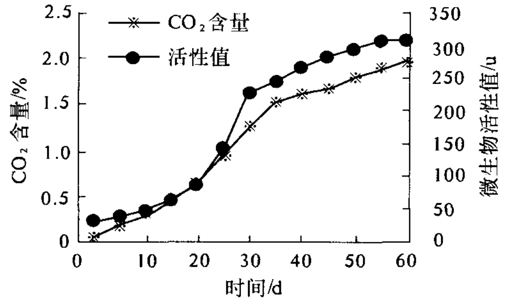

图 3　CO_2 含量与微生物活性的变化
(温度 30 ℃，水分 14.0%)

2.4　CO_2 检测技术与菌落计数法及微生物活性检测法的相关性分析

比较不同检测方法对不同水分小麦储藏微生物活动的检测值，其相关系数分析的结果如表 2 所示. 在小麦安全水分的状态下(水分含量 11.5%)，微生物没有生长和代谢活动的条件. 由于储藏环境中所有生物量微弱呼吸的结果，在完全密闭的条件下二氧化碳浓度呈现非常缓慢的升高现象，而小麦的菌落计数及微生物活性值检测基本上处于稳定状态，因此，其相关系数非常低. 但鉴于安全水分小麦储藏升高的二氧化碳浓度总量非常低(60 d 升高 0.267%)，不会影响储粮管理人员对小麦安全性状态的判断.

当小麦水分超过安全水分后，二氧化碳浓度检测值与小麦菌落检测及微生物活性值检测的相关性显著提高(表 2)，14% 水分小麦 60 d 储藏期与小麦菌落计数检测值的相关系数达到 0.95，其中在微生物生长最活跃的第 16 天至第 40 天相关系数最高(0.96)，说明微生物快速增殖时，呼吸作用也最为旺盛；虽然在储藏起始的 15 d 中两种检测方法的相关系数较低，但从图 1 可以看出，小麦中二氧化碳浓度的升高较带菌量增加更明显，这是因为霉菌在生长初期，从孢子萌发、菌丝生长到形成子代分生孢子需要一定的时间，这一时期霉菌的呼吸作用逐渐增强，使得环境中二氧化碳浓度有明显升高. 因此监测粮堆二氧化碳浓度变化较通过检测带菌量监测霉菌对储粮的危害性更为敏感. 14% 水分小麦 60 d 储藏期与微生物活性值的相关系数达到 0.99，各个时段的检测相关性系数也均在 0.98 以上，说明其对微生物活动的监测灵敏度达到了微生物活性值检测的水平.

表 2　小麦储藏 CO_2 浓度与菌落计数值及微生物活性值的相关系数

项目	11.5% 水分小麦	14% 水分小麦				16% 水分小麦
		全部	前 15 d	16 ~ 40 d	41 ~ 60 d	
菌落计数值	-0.02	0.95	0.90	0.96	0.92	0.90
微生物活性值	0.4	0.99	0.98	0.99	0.99	0.99

当储藏小麦水分进一步提高达到 16% 时，二氧化碳浓度检测值与带菌量变化的相关系数为 0.9，与 14% 小麦在储藏起始 15 d 的水平相当，与微生物活性值变化的相关系数仍为 0.99，其原因也是由于子代分生孢子产生的迟后效应. 因此，利用二氧化碳浓度变化监测储粮的微生物危害性更具有前瞻性.

3　小结

通过检测粮堆 CO_2 浓度变化监测储粮中微生物的活动是一种新的方法. 本试验通过对安全水分、偏高水分及高水分小麦储藏期间二氧化碳变化的监测，并与传统的霉菌带菌量检测及近几年研发的微生物活性检测技术相比较，证明二氧化碳检测法是一种可靠的监测微生物活动的技术. 进一步的比较表明，二氧化碳检测法监测微生物活动比菌落计数法能更早反映微生物活动变化情况，具有更高的监测灵敏度. 在监测储粮微生物生长、代谢活动状态方面该技术与微生物活性检测法相近，可以提前预测微生物在储粮中的增殖状况，对于保证储粮安全有重要的意义. 由于二氧化碳检测技术可以通过在粮堆中预埋通气管道而

实现仓外在线检测,避免人员进仓取样的不便和较大的人力、物力消耗,并且有可能通过组建特定的系统,实现远程自动监控,因此这一技术具有较大的发展潜力.

参考文献:

[1] 蔡静平.储粮微生物活性及其应用的研究[J].中国粮油学报,2004,19(4):76-79.

[2] Keshri G, Magan N, Voysey P. Use of an electronic nose for the early detection and differentiation between spoilage fungi[J]. Letters in Applied Microbiology,1998,27:261-264.

[3] Thomas B, Ulla S, Johan S. Volatile metabolites produced by six fungal species compared with other indicators of fungal growth on cereal grains[J]. Applied and Environmental Microbiology,1992,8: 2599-2605.

[4] 詹继悟.粮食和油料种子在储藏期间的呼吸作用[J].粮食科技与经济, 1998(4):29-31.

[5] 蔡静平.仪器法与菌落计数法检测储粮微生物敏感性的比较[J].郑州工程学院学报,2003,24(14):18-21.

STUDY ON MONITORING OF MICROBIAL ACTIVITY OF STORED WHEAT BY METHOD OF CO_2 DETERMINATION

LIANG Wei, CAI Jing-ping, GAO Xiang

(*College of Bioengineering*, *Henan University of Technology*, *Zhengzhou* 450052, *China*)

Abstract: The change of CO_2 content of wheat with different moisture contents (MC) and its correlation with mold quantity and microbe activity (MA) in the simulating storage wheat were investigated under the simulated storage condition. The results indicated that both CO_2 content and the biomass of microbe during the conventional storage period of wheat with the safe MC did not increase significantly. The CO_2 content of wheat with MC of 14% reached 0.244% after 10 d storage. Due to the high sensitivity (0.001%), the CO_2 content detection method, which was similar to MA detection, can earlier and more accurately detect the harmful microbe in stored wheat than mold quantity detection. The analytic results further showed that the data of the above detection methods has positive correlation. When the MC of the stored wheat exceeds the safe MC, the CO_2 content detection value of wheat with MC 14% after 60 d storage had a correlation coefficient 0.95 with the mold quantity detection value and also had a correlation coefficient 0.99 with MA detection value. The detection data correlations of wheat with MC 16% was similar to that of wheat with MC 14%, which were 0.90 and 0.99, respectively.

Key words: carbon dioxide detection; microbial activity; cereal storage